

SEMINAR NASIONAL BIOLOGI USU 2016



OLYMPUS



Sertifikat

Diberikan kepada:

HASMIWATI

Atas Partisipasinya Sebagai:

PEMAKALAH

Pada kegiatan SEMINAR NASIONAL BIOLOGI USU tanggal 9 April 2016 di Medan, dengan tema
"Implementasi Riset Hayati dan Pengembangannya di Era Masyarakat Ekonomi ASEAN (MEA)"

Dekan FMIPA USU

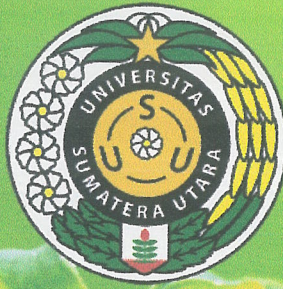
Dr. Sutarmam, M.Sc.

NIP.196310261991031001

Ketua Panitia Pelaksana

Dr. Yurnaliza, M.Si.

NIP.197107181999032001



PROSIDING

SEMINAR NASIONAL BIOLOGI

MEDAN, 9 APRIL 2016

Tema :

**Implementasi Riset Hayati dan Pengembangannya
di Era Masyarakat Ekonomi Asean (MEA)**

Editor :

Dr. Erni Jumilawaty, M.Si. (Biologi USU)

Dr. Fitmawati, M.Si. (Biologi UNRI)

Dr. It Jamilah, M.Sc. (Biologi USU)

Prof. Dr. Manihar Situmorang, M.Sc. (Kimia UNIMED)

Dr. Salomo Hutahaeen, M.Si. (Biologi USU)

Prosiding
SEMINAR NASIONAL
BIOLOGI

Medan, 9 April 2016

Tema :
Implementasi Riset Hayati
dan Pengembangannya
di Era Masyarakat Ekonomi Asean (MEA)



Editor :

Dr. Erni Jumilawaty, M.Si. (Biologi USU)
Dr. Fitmawati, M.Si. (Biologi UNRI)
Dr. It Jamilah, M.Sc. (Biologi USU)
Prof. Dr. Manihar Situmorang, M.Sc. (Kimia UNIMED)
Dr. Salomo Hutahaeon, M.Si. (Biologi USU)

 **USU** press

2016

PENAPISAN BAKTERI HALOFILIK DARI PERAIRAN LAUT KOTA PARIAMAN Rahmadani Marniyelita, Fuji Astuti Febria dan Anthoni Agustien	241
KARAKTERISASI MIKROKAPSUL SINBIOTIK BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT UM1 YANG DIENKAPSULASI DENGAN ALGINAT, TEPUNG KACANG ARAB DAN INULIN Ria Yelvi Ningsih, It Jamilah, Dwi Suryanto	244
TEST QUALITY FRESH VEGETABLES LETTUCE (<i>Lactuca sativa</i>) AND CABBAGE (<i>Brassica oleracea</i>) IN SOME TRADITIONAL MARKET IN MEDAN CITY SEEN FROM CONTENT THE BACTERIA <i>Escherichia coli</i> Sri Natalia Silaen, Herkules Abdullah	252
PENGARUH SUPLEMENTASI BAKTERI ASAM LAKTAT ISOLAT UM 1 DAN INULIN TERHADAP KULTUR BENIH IKAN NILA (<i>Oreochromis niloticus</i>) Virza Ratika Inneke Putri, It Jamilah, Nunuk Priyani	259
APLIKASI ISOLAT <i>Bacillus cereus</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> TERHADAP <i>Pyricularia grisea</i> PENYEBAB PENYAKIT BLAST PADA PADI CIHERANG Zuraidah, Marjulia Ukhra.....	268
STRUKTUR DAN FUNGSI HEWAN DAN BIOMEDIS	
DETEKSI DAN IDENTIFIKASI RESISTENSI INSEKTISIDA SINTETIK PADA <i>Aedes aegypti</i> VEKTOR DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD) DI KOTA PADANG Hasmiwati, Djong Hon Tjong and Eka Novita	277
EFEK PETIDIN TERHADAP PSIKOMOTORIK DAN FUNGSI KOGNITIF PADA MENCIT (<i>Mus musculus</i> L.) CEMAS DENGAN MENGGUNAKAN ALAT SISTEM OTOMATIS INTELLICAGE Putri Febriani Hasibuan, Syafruddin Ilyas, Salomo Hutahaean.....	285
EFEK ALPRAZOLAM TERHADAP PERILAKU KOGNITIF DAN PSIKOMOTORIK PADA MENCIT (<i>Mus musculus</i> L.) DENGAN MENGGUNAKAN ALAT SISTEM OTOMATIS INTELLICAGE Rinda Febriananda, Syafruddin Ilyas, Salomo Hutahaean.....	292
PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN SUREN (<i>Toona sureni</i> BL Merr) TERHADAP SGPT DAN JUMLAH ERITROSIT TIKUS (<i>Rattus norvegicus</i>) WISTAR JANTAN YANG DIPAPARI KARBON TETRAKLORIDA (CCl ₄) Sera Wida Simatupang, Salomo Hutahaean, Masitta Tanjung	302
PENGARUH MUSIK KLASIK MOZART TERHADAP PERILAKU MENCIT (<i>Mus musculus</i> L.) YANG DIINDUKSI OLEH OBAT KLORPROMAZIN DENGAN MENGGUNAKAN ALAT OTOMATIS INTELLICAGE Siska Renata Sembiring, Syafruddin Ilyas, Emita Sabri.....	307

DETEKSI DAN IDENTIFIKASI RESISTENSI INSEKTISIDA SINTETIK PADA *Aedes aegypti* VEKTOR DEMAM BERDARAH DENGUE (DBD) DI KOTA PADANG

Detection and Identification of Synthetic Insecticide Resistance in *Aedes aegypti* Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) Vector in Padang

Hasmiwati¹, Djong Hon Tjong² and Eka Novita¹

¹Parasitology Division, Medical Faculty, Andalas University, Padang,
Email: hasmiwati65@gmail.com. ²Biology Department, Mathematics and Science Faculty,
Andalas University, Padang

Abstract

One of a genetically effort of *Ae. aegypti* as Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) vector is by using a synthetic insecticide that is an effective way to break the chain of transmission of dengue. However, the use of insecticides intensively for a long time could cause resistance. Some ways to detect synthetic resistance are susceptibility test (bioassay) according to the WHO, biochemistry, and molecular detection. The purpose of this study was to detect mutations at codon 989 and codon 1016 of VGSC genes, associated with vector resistance to insecticide temephos. Detection of VGSC gene mutations was performed by susceptibility test according to WHO, DNA of mosquito larvae which were still alive (resistance) then were extracted and amplified with Aed3 and Aed2 primers, and obtained DNA was sequenced. The results of this study showed >80% of mortality rate, while based on the confirmation of sequencing, mutation was detected at codon 1016 of valine to glycine, and codon 989 of serine to proline of *Aedes aegypti* which derived from Pasar Ambacang village of Padang, related to insecticide resistance temephos that used to larvae control. The conclusion of this study was the occurrence of point mutation in S989P and V1016G of VGSC gene *Aedes aegypti* larvae, as a target site resistance marker on synthetic of organophosphat in Padang.

Keywords: *Aedes aegypti*, insecticide resistance, Voltage Gated Sodium Channel (VGSC), point mutation.

PENDAHULUAN

Setiap tahun kasus Demam Berdarah Dengue (DBD) di kota Padang selalu meningkat yang merupakan salah satu indikasi bahwa program pengendalian nyamuk vektor *Ae. aegypti* belum berhasil. Pada tahun 2012 jumlah kasus DBD di kota Padang sebanyak 1.626 kasus dengan Case Fatality Rate (CFR) 0,6% atau setara dengan 10 kematian. Selanjutnya pada tahun 2013 terjadi penurunan hingga tahun 2014 dengan jumlah 998 kasus menjadi sebanyak 666 kasus. Namun pada tahun 2015 jumlah tersebut kembali meningkat menjadi sebanyak 1126 kasus. Sehubungan dengan tersebut Dinkes Sumatera Barat mencatat bahwa kota Padang merupakan daerah dengan kasus DBD tertinggi dibandingkan dengan 18 kota/kabupaten endemik lainnya sejak tahun 2006 hingga 2015 (DKK Padang, 2015).

Di Indonesia telah dilakukan berbagai program untuk pengendalian vektor DBD, yaitu dengan manajemen lingkungan, partisipasi masyarakat, perlindungan individu, pengendalian biologis dan pengendalian kimiawi. Pengendalian kimiawi dapat berupa fogging untuk nyamuk dewasa dan penggunaan larvasida atau abatisasi untuk larva nyamuk (Kemenkes RI, 2010).

Abatisasi merupakan salah satu tindakan pengendalian nyamuk *Ae. Aegypti* yang masih dilaksanakan hingga saat ini. Abatisasi adalah suatu tindakan pengendalian kimiawi yang dilakukan terhadap larva nyamuk *Aedes sp.* Di Indonesia, tindakan abatisasi dilakukan dengan menggunakan temephos 1% dengan dosis 1 ppm. Kandungan bahan aktif dari Temephos adalah *Tetramethyl Thiodi*, *P-Phenylene*, *Phasporothioate* 1%, dan *inert ingredient* 99%. Walaupun usaha pencegahan DBD telah dilakukan dengan pengendalian vektornya, namun masih terjadi peningkatan kasus DBD, karena resistensi vektor DBD terhadap insektisida (Dinkes, 2013; WHO, 2012)

Lima *et al.*, (2008) melaporkan pada beberapa kota di negara Brazil bahwa nyamuk vektor *Ae.aegypti* telah resistensi terhadap insektisida temephos. Mulyanto *et al.*, (2012) juga melaporkan adanya resistensi larva *Ae. aegypti* terhadap temephos di kota Surabaya, dengan kematian larva beragam dari 20% hingga 60%. Hal tersebut mengindikasikan bahwa strain nyamuk di kota Surabaya telah resisten terhadap temephos yang digunakan untuk abatisasi.

Penggunaan insektisida dengan dosis, obat, sasaran dan cakupan yang tepat akan mampu mengendalikan vektor DBD. Sebaliknya, jika insektisida digunakan secara tidak tepat dan dalam jangka waktu tertentu akan menimbulkan resistensi vektor (Kemenkes RI, 2010). Penggunaan temephos yang telah lebih dari 30 tahun juga memungkinkan terjadinya perkembangan resistensi (Setiawan dan Fikri, 2014). Penentuan resistensi bergantung kepada bioassay, konsentrasi insektisida yang tetap dan menghitung waktu paparan dan data dilaporkan sebagai persentase kematian serangga atau efek *Knock Down* (KD). WHO telah menetapkan dosis diagnosis standar untuk setiap insektisida (Corbel dan N'Guessan, 2013). Jika mortalitas, serangga uji <80% pada suatu populasi serangga tersebut dinyatakan telah resisten, sehingga tidak bisa lagi digunakan jenis insektisida tersebut untuk pengendalian vektor (IRAC, 2011).

Munculnya resistensi vektor terhadap insektisida yang semakin meluas menambah sulit untuk menanggulangi penyakit yang ditularkan vektor. Mekanisme resistensi terhadap insektisida mempunyai dasar secara biokimia. Dua bentuk mekanisme utama resistensi secara biokimia adalah : 1). *Target site resistance* yang terjadi apabila insektisida tidak lagi dapat mengikat target/ sasaran. 2). *Detoxification enzyme-based resistance* yang terjadi karena peningkatan aktivitas enzim *esterase*, *oxidase*, atau *glutathione- S-transferase* (GST) untuk degradasi insektisida sebelum mencapai tempat sasaran (*target site*) (Brogdon *et al.*, 1998).

Deteksi dini status kerentanan vektor terhadap insektisida dapat bermanfaat sebagai informasi program untuk pemilihan insektisida yang tepat dalam pengendalian vektor secara lokal spesifik. Deteksi resistensi vektor terhadap insektisida dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu : 1. Deteksi secara konvensional dengan metode standart WHO *susceptibility test*, 2. Deteksi secara biokimia atau enzimatis menggunakan mikrotiter, dan 3. Deteksi secara molekuler.

Prinsip dasar deteksi resistensi pada vektor secara molekuler adalah mengidentifikasi mutasi gen yang menjadi target kelompok insektisida secara konvensional, yang salah satunya adalah gen *voltage gated sodium channel* (VGSC) akibat penekanan secara selektif insektisida kelompok Organofosfat dan Pyrethroid serta gen *Acetylcholin esterase* (*AceI*)(French- Costant, 2004). Pada serangga yang telah resisten terhadap insektisida perytroit dan organofosfat mekanisme resistensi penting diketahui untuk mendeteksi perubahan atau mutasi pada gen VGSC. Secara molekuler pada gen VGSC terjadi perubahan satu basa nukleotida pada asam amino yang berkaitan dengan resistensi. Berdasarkan uraian diatas tujuan penelitian ini untuk mendeteksi dan identifikasi mutasi pada kodon V1016G dan kodon S989P gen VGSC yang berkaitan dengan resistensi vektor *Aedes aegypti* terhadap insektisida temephos di kota Padang.

BAHAN DAN METODE

A. Uji Resistensi dengan metode standar WHO *Susceptibility test*

Metode uji kerentanan melalui metode bioassay. Biassay larva dilakukan menggunakan temephos pestanal 250 mg 97,5% (Sigma-Aldrich) pada larva instar III atau awal instar IV yang ditempatkan pada gelas eksperimen. Konsentrasi temephos yang digunakan adalah sesuai standar WHO (1981) yaitu standar diagnostik 0,02 mg/l dilakukan pada 20 ekor larva dan kontrol. Pengamatan dilakukan pada jumlah kematian larva setelah pengamatan selama 24 jam. Uji resistensi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk meminimalisasi kesalahan pengukuran. Kriteria dilakukan menurut Herath : (i). kematian sebesar 99- 100% = Rentan. (ii) kematian 80-98% = toleran/perlu verifikasi. (iii) kematian < 80% resisten.

B. Uji Molekuler

Metode molekuler yang digunakan meliputi beberapa langkah seperti berikut : Isolasi DNA dari larva nyamuk *Ae.aegypti* hasil uji bioassay dengan menggunakan kit Isolasi dari Invitrogen protokol sesuai dengan yang direkomendasikan pabrik. Selanjutnya PCR (Amplifikasi) menggunakan sepasang primer Aed3 F ; 5' ACT ACA TCG GAA TGT GGA TCG 3' dan Aed2 R: 5' TTG TTG GTG TGC GTT GTC GGC CGT CGG 3', Marcombe *et al.*, (2012). DNA hasil amplifikasi dipurifikasi sebelum disekuensing di Macrogen Korea. Pengeditan hasil sekuensing dilakukan dengan program Bioedit software yang diakses secara online pada situs: NCBI: <http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit/>. Selanjutnya dilakukan analisis SNP menggunakan program Geneious versi 5.5.7 untuk mengetahui adanya mutasi kodon pada gen VGSC.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Bioassay

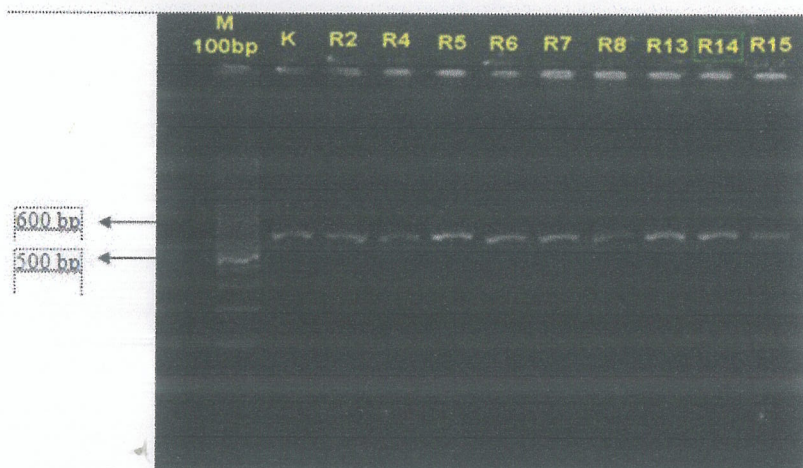
Hasil bioassay uji resistensi standar WHO *susceptibility test* beberapa sampel nyamuk *Aedes aegypti* di Kota Padang menunjukkan adanya resisten terhadap temephos dengan konsentrasi diagnostik 0,02 mg/l (kelompok Organopofosfat). Hasil uji resistensi tersebut digunakan untuk menyeleksi nyamuk yang telah resisten yang akan digunakan untuk mendeteksi dan mengidentifikasi mutasi gen *VGSC* yang berperan dalam resistensi insektisida.

Hasil *susceptibility test* menggambarkan bahwa larva nyamuk yang tidak mati atau masih hidup dengan kematian <80% dinyatakan resisten. Bioassay *susceptibility test* yang juga dilakukan oleh Litbangkes RI (2015) melaporkan bahwa di Sumatera Barat nyamuk *Ae.aegypti* telah resisten di kota Bukittinggi dan Kabupaten Pesisir Selatan sedangkan di kota Padang masih kisaran toleran terhadap temephos (Komonikasi Pribadi). Perbedaan hasil uji bioassay yang dilakukan di kota Padang mungkin disebabkan oleh perbedaan lokasi karena penggunaan larvasida di masing-masing lokasi dengan intensitas yang berbeda.

Temephos merupakan golongan insektisida organofosfat yang banyak digunakan oleh masyarakat dan juga digunakan oleh pemerintah untuk program pengendalian nyamuk namun penggunaannya tidak terkontrol sehingga menyebabkan resistensi pada vektor nyamuk tersebut. Mekanisme resistensi yang terjadi akibat insektisida golongan organofosfat adalah metabolik resisten yaitu adanya enzim-enzim yang dapat mendegradasi insektisida sebelum mencapai sasaran atau target site. Data resistensi nyamuk yang didapatkan dari lokasi berbeda dan dari waktu ke waktu sangat diperlukan untuk pengembangan strategi manajemen pengendalian vektor . Selanjutnya dengan konfirmasi data sekuensing dideteksi dan diidentifikasi terjadinya mutasi pada gen *VGSC* nyamuk *Aedes aegypti* dari kelurahan Pasar Ambacang Kuranji Padang.

Uji Molekuler

Isolasi DNA larva menggunakan kit Invitrogen dan di amplifikasi dengan menggunakan primer Aed3 F dan Aed2R menghasilkan fragmen gen VGSC sesuai dengan sekuen target dengan panjang 579 bp. Hasil PCR tersebut pada beberapa larva *Ae. aegypti* di elektroforesis pada gel agarose 1,5% diperlihatkan pada Gambar 1. Hasil PCR tersebut kemudian di sekuensing yang menghasilkan 579 pasangan basa nukleotida.



Gambar 1 : Elektroforegram hasil Amplifikasi Fragmen DNA gen VGSC

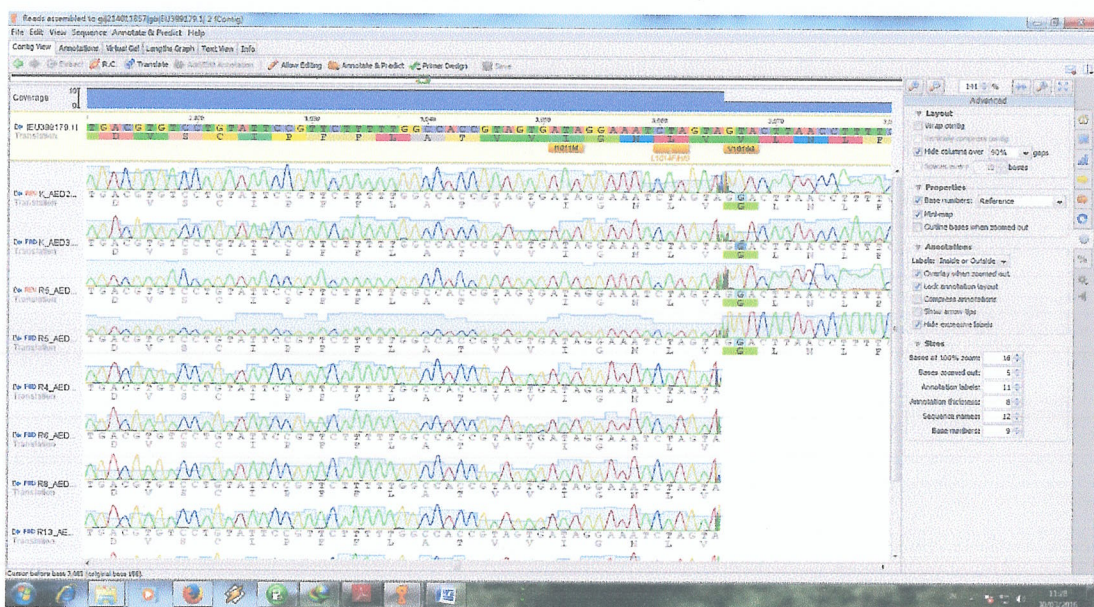
Hasil analisis sekuen DNA tersebut menunjukkan adanya 2 titik mutasi pada kodon 989 pengkode Serin (TCA) berubah menjadi Prolin (CCA) dan mutasi pada titik 1016 kodon pengkode Valin (GTA) berubah menjadi Glysin (GGA). Hasil analisis dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3..

Mutasi titik yang didapatkan pada penelitian ini tidak berbeda dengan penelitian sebelumnya yaitu di Martique Perancis oleh Marcombe *et al.*, (2012) di India 2013 oleh Kuswah *et al.*, (2015) di Amerika Latin, Asia Tenggara dan Cina Chun Xiau Li (2015). Namun hasil penelitian ini berbeda dengan Widiarti *et al.*, (2011) di kelurahan Simongan Kota Semarang yang mendeteksi mutasi kodon 1014 Leusin (TTA) berubah menjadi Fenilalanin (TTT) serta oleh Ghiffari *et al.*, (2013) di Palembang yang berhasil mendeteksi mutasi 1016 Valin menjadi Isoleusin. Hal ini diduga karena penggunaan primer dan target sekuen yang berbeda. Mutasi- mutasi yang terjadi pada gen VGSC. Sampai saat ini telah di temukan beberapa mutasi titik yang berbeda pada beberapa serangga. Pada *Ae. aegypti* di ketahui mutasi gen terjadi pada titik : 1) I1011M (ATA menjadi ATG) (Daborn *et al.*, 2002), 2) I1011V (ATA menjadi GTA) (Yanola *et al.*, 2011), 3) F1552C (TTC menjadi TGC) (Kawada *et al.*, 2009), 4) F1534C (TTC menjadi TGC) (Yanola *et al.*, 2010), 5) V1023G (GTA menjadi GGA) (Lima *et al.*, 2008), V1016G (Srisawat *et al.*, 2010 dan Kasai *et al.*, 2011) dan 6) F1023C (TTC menjadi TGC) (Kasai *et al.*, 2011).

Hasil penelitian ini mengkonfirmasi bahwa mutasi titik gen VGSC yang berbeda beda sesuai dengan jenis insektisida yang digunakan, desain primer serta lokasi pengoleksian larva *Ae. aegypti*.

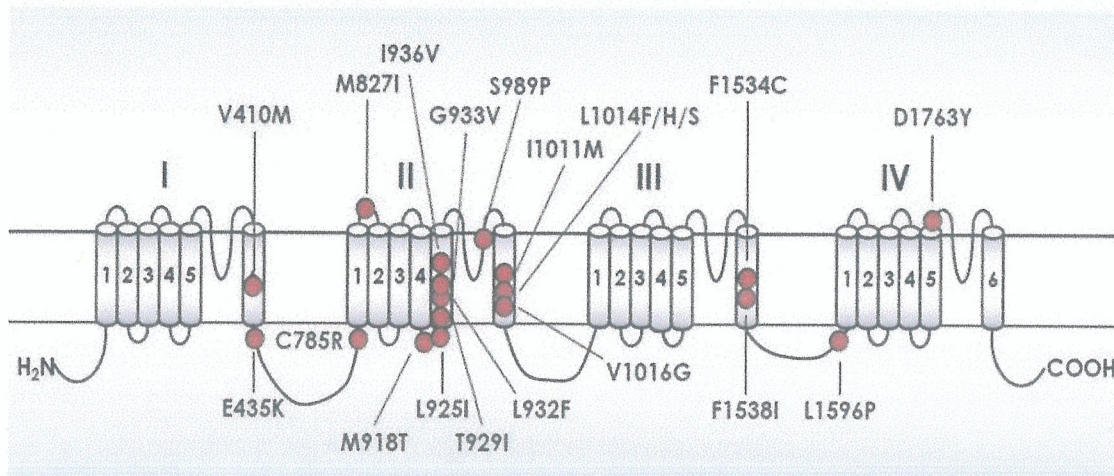


Gambar 2 : Hasil analisis data sekuensing adanya mutasi pad kodon S989P *Ae. aegypti*



Gambar 3 : Hasil analisis data sekuensing adanya mutasi pad kodon V1016G *Ae. aegypti*

kdr mutations in the sodium channel



Pada saat ini pengendalian vektor larva *Ae. aegypti* yang dilakukan pemerintah adalah dengan menggunakan temephos terutama di kota dan didaerah daerah endemik DBD termasuk di kota Padang. Pada pertemuan teknis dari *The National Resistance Monitoring of Ae. aegypti* (MoReNAa) tahun 2006 di tentukan bahwa program pengendalian vektor di kota-kota dengan rasio resistensi *Ae. aegypti* lebih besar dari 3 harus menggunakan insektisida lain dengan mekanisme kerja yang berbeda agar mengurangi tekanan seleksi terpajan (Ministerio da Saude, 2006).

Disamping penggunaan insektisida alternative, populasi harus di pantau terus menerus untuk mengetahui resistensi terhadap temephos sampai insektisida ini bisa dipakai kembali. Selain itu perlu terjadi perubahan budaya didalam masyarakat agar mengenadlikan *Ae aegypti* secara terus menerus dan secara keseluruhan daerah dengan efektif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor DBD di kelurahan Pasar Ambacang Kuranji di Kota Padang telah resisten terhadap temephos yang di gunakan sebagai larvisida. Deteksi dan identifikasi resistensi secara molekuler juga mendapatkan mutasi pada kodon S989P (Serin berubah menjadi Prolin) dan Kodon V1016G (Valin berubah menjadi Glysin).

DAFTAR PUSTAKA

- Brogdon, W.G. and. J.C.McAllister. 1998. Insecticide Resistance and Vector Control. *Emerging Infectious Diseases*. Vol 4: 605-61 3.
- Corbel, V., R. N'Guessan. 2013. Distribution, mechanism, impact, and management of insecticide resistance in malaria vectors: a pragmatic review. Diakses dari <http://www.intechopen.com/books/anopheles-mosquitoes-new-insights-into-malaria-vectors/distribution-mechanisms-impact-and-management-of-insecticide-resistance-in-malaria-vectors-a-pragmat> pada tanggal 26 Desember 2015.
- Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat. 2013. Profil kesehatan Provinsi Sumatera Barattahun2013. Diakses dari <https://dinkeskotapadang1.files.wordpress.com/2014/08/profil-tahun-2013-edisi2014.pdf> pada tanggal 21 Desember 2015.

- Daborn ,P.J., Yen, Bogwitz,J.L., Le Goff, M.R., Feil, E., Jeffers, S., Tijet, N., Perry, T., D.Heckel,, P. Batterham.2002. A single P450 allele associate with insecticide resistance in *Drosophila*. *Science*. ;297:2253-2256
- Ffrench - Constant, R. H.; Philip J. Daborn and Gaelle Le Goff.2004. The genetics and genomics of insecticide resistance. *TRENDS in Genetics*. Vol. 20 (3): 163-170.
- Ghiffari, A., Fatimi, H., Anwar, C. 2013. Detection of Insecticide Synthetic Pyrethroid Resistance on Dengue Vector *Aedes aegypti* (L.) in Palembang using Polymerase Chain Reaction. *Aspirator* vol 5. P:37-44
- Herath, P.R.J. Insecticide Resistance Status in Disease Vectors and its Practical Implications Intercountry Workshop on Insecticide Resistance of Mosquito
- Insecticide Resistance Action Committee*. 2011. Prevention and management of resistance in vectors of public health importance 2nd edition. Diakses dari [http://www.irac-online.org /content /uploads /VM-Layout-v2.6_LR.pdf](http://www.irac-online.org/content/uploads/VM-Layout-v2.6_LR.pdf) pada tanggal 24 Desember 2015.
- Kementerian Kesehatan RI. 2010. Buletin jendela epidemiologi volume 2. Diakses dari <http://www.depkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/buletin/buletin-dbd.pdf> pada tanggal 22 Desember 2015.
- Kasai S, Ching, L. Lam-Phua, S.G., Tang,C.S., Itokawa, K., Komagata, O., Kobayashi,M. and Tomita, T. 2011. First Detection of a Putative Knockdown Resistance Gene in Major Mosquito Vector, *Aedes albopictus*. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2011; 64:217-221.
- Kawada, H., Higa, Y., Komagata, O. 2009. Widespread Distribution of A Newly Found Point Mutation in Voltage-Gated Sodium Channel in Pyrethroid Resistant *Aedes aegypti* Populations in Vietnam. *PloS Neglected Tropical Diseases*. Vol. 3, 5271-5277
- Kuswah, R. B.S., Dykes, C. L., Kapoor, N., Adak, T. and Sing, O.P. 2015. Pyrethroid-Resistance and Presence of Two Knockdown Resistance (kdr) Mutations, F1534C and a Novel Mutation T1521I, in Indian *aedes aegypti*. *Plos Neglected Tropical Diseases*. Vol. ((1):1-8.
- Lima, E.P., Paiva, M.H.S., de Araújo, A.P., da Silva, É.V.G, da Silva, U.M., de Oliveira, et al. 2008. Insecticide Resistance in *Aedes aegypti* Populations from Ceará, Brazil. *Parasites & Vectors*. Vol 4(5): 1-12.
- Marcombe, S., Mathieu, R.B., Pocquet, N., Riaz, M. A., Poupardin, R., Seilor, S., Darriet, F., Reynaud, S., Yebakima, A., Corbel, V., David, J.P and Chandre, F. 2012. Insecticide Resistance in the dengue Vector *aedes aegypti* from Martinique: Distribution, Mechanisms and Relations with Environmental Factors. *Plos One*. Vol. 7 (2):1-10.
- Mulyanto, K.C., Yamanaka, A., Ngandino, Konishi, E. 2012. Resistance of *Ades aegypti* (L.) larvae to temephos in Surabaya, Indonesia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 43(1):29-33.
- Ministerio de Saude. 2006. Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral do Programa Nacional de Controle da Dengue. Reunião técnica para discutir status de resistência de *Aedes aegypti* a inseticidas. Brasília, Ministério da Saúde

- Srisawat R, Komalamisra, N. and Eshita, Y. 2010. Point Mutations in Domain II of the Voltage Gated Sodium Channel Gene in Deltamethrin Resistant *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Appl. Entomol. Zool. Vol. 45: 275-282.
- Setiawan, Y.D., Fikri, Z. 2014. Efektifitas larvasida temephos (abate 1G) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* Kecamatan Sewon Kabupaten Bantul DIY Tahun 2013. Media Bina Ilmiah, 8(4):33-36
- Suroso, T. 1996. Dengue haemorrhagic fever in Indonesia: Epidemiological trend and development of control policy. Dengue Buletin, 20:35-40.
- Chun-Xiao Li, Kaufman, P.E., Rui-De Xue, Ming-Hui Zhao, Wang, G., Yan, T., Xiao-Xia Guo, Ying-Mei Zhang, Yan-De Dong, Xing, D., Heng-Duan Zhang and Tong-Yan Zhao^{1*} Relationship between insecticide resistance and kdr mutations in the dengue vector. *Aedes aegypti* in Southern China. Parasites & Vectors. Vol 8 :325 : 1-9
- Yanola J, Somboon, P., Walton, C., Nachaiwieng, W., Somwang, P., Prapanthadara, L. 2011. High Throughput Assays for Detection of The F 1 534C Mutation in The Voltage Gated Sodium Channel Gene in Permethrin Resistant *Aedes aegypti* and The Distribution of This Mutation Throughout Thailand. Tropical Medicine and International Health. Vol. 16(4): 501- 509.
- Widiarti, Boewono, D.T., Garjito, T. A., Tunjungsari, R., Asih, P.B.S. dan Syafruddin, D. 2012. Identifikasi mutasi Noktah Gen Voltage Gated Sodium Channel *Aedes aegypti* Resisten terhadap Insektisida Pyretroid di Semarang Jawa Tengah. Bul. Penelit. Kesehat, vol.40 (1)
- World Health Organization. 1981. Instruction for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Diakses dari http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/69615/1/WHO_VBC_81.807_eng.pdf pada tanggal 26 Desember 2015.
- World Health Organization. 2012. Global strategy for dengue prevention and control. Diakses dari http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75303/1/9789241504034_eng.pdf pada tanggal 21 Desember 2015.